



## ISTRUZIONI PER L'USO

## MALARIA MBPAN

TEST IMMUNOCROMATOGRAFICO RAPIDO PER LA DETERMINAZIONE DI *MALARIA P.F/P.V/P.O/P.M* IN CAMPIONI DI SANGUE INTERO UMANO

## 1 – INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

Per solo uso diagnostico *in Vitro*

La malaria è una malattia febbrile emolitica trasmessa dalle zanzare che infetta oltre 200 milioni di persone e ne uccide più di 1 milione all'anno. È causata da quattro specie di *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*. Tutti questi protozoi infettano e distruggono gli eritrociti umani, producendo brividi, episodi febbrili, anemia e splenomegalia. Il *P. falciparum* causa malattie più gravi rispetto alle altre specie di *Plasmodium* e rappresenta la maggior parte dei decessi per malaria. *P. falciparum* e *P. vivax* sono gli agenti patogeni più comuni, tuttavia esiste una notevole variazione geografica nella distribuzione delle specie<sup>1</sup>. Tradizionalmente, la malaria viene diagnosticata attraverso l'osservazione degli organismi su strisci di sangue periferico colorati con Giemsa, e le diverse specie di *Plasmodium* vengono distinte in base al loro aspetto negli eritrociti infetti<sup>1</sup>. La tecnica viene eseguita solo da microscopisti ben addestrati che utilizzano protocolli definiti<sup>2</sup>, il che rappresenta un grosso ostacolo per le aree remote e povere del mondo.

Il Malaria MBPan è stato sviluppato per risolvere questi ostacoli. Il test utilizza una coppia di anticorpi per rilevare la Proteina II ricca in Istidina del *P. falciparum* (pHRP-II) e una coppia di anticorpi per rilevare la lattato deidrogenasi del plasmodium (pLDH) per individuare *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae*, consentendo così di rilevare e differenziare simultaneamente un'infezione da *P. falciparum* e/o da una qualsiasi delle altre tre specie di plasmodium<sup>3-6</sup>. Può essere eseguito in 30 minuti da personale minimamente qualificato, senza l'uso di attrezzature di laboratorio.

Malaria MBPan è un test immunocromatografico manuale a flusso laterale per la rilevazione e la differenziazione simultanea dell'antigene di *Plasmodium falciparum* (Pf) e dell'antigene di *P. vivax*, *P. ovale* o *P. malariae* in campioni di sangue umano. Questo dispositivo è destinato a essere utilizzato come test di screening e come ausilio nella diagnosi di infezione da plasmodium.

## 2 – PRINCIPIO DEL METODO

Il Malaria MBPan è un immunocromatografico a flusso laterale. I componenti della striscia reattiva sono costituiti da: 1) un pad colorato contenente anticorpo monoclonale anti pHRP-II coniugato con oro colloidale (coniugati pHRP II-oro), anticorpo monoclonale anti-pLDH coniugato con oro colloidale (coniugati pLDH-oro), un anticorpo di controllo coniugato con oro colloidale e 2) una membrana di nitrocellulosa contenente due linee test (linee Pan e Pf) e una linea di controllo (linea C). La linea Pan è pre-rivestita con anticorpo anti-pLDH per la rilevazione dell'infezione da una delle quattro specie di plasmodium, la linea Pf è pre-rivestita con anticorpi anti-pHRP-II per la rilevazione dell'infezione da Pf e la linea C è rivestita con un anticorpo di controllo.

Durante il test, un volume adeguato di campione di sangue viene dispensato nel pozzetto del campione (S) della card e viene aggiunto un tampone di lisi al pozzetto del tampone (B). Il tampone contiene un detergente che lisa i globuli rossi e rilascia i vari antigeni del plasmodium, che migrano per azione capillare attraverso la membrana. Il pHRP-II, se presente nel campione, si lega ai coniugati pHRP II-oro. L'immunocomplesso viene quindi catturato sulla membrana dagli anticorpi anti-pHRP-II pre-rivestiti, formando una linea Pf colorata che indica un risultato positivo al test per Pf.

La pLDH, se presente nel campione, si legherà ai coniugati pLDH-oro. L'immunocomplesso viene quindi catturato sulla membrana dall'anticorpo anti pLDH pre-rivestito, formando una linea Pan di colore bordeaux. In presenza di una linea Pf, una linea Pan indica un risultato positivo per Pf o un risultato positivo per Pf e una qualsiasi delle altre tre specie di *Plasmodium* (Pv, Pm, Po). In assenza della linea Pf, una linea Pan indica un risultato positivo per Pv, Po o Pm o una combinazione di queste tre specie di *Plasmodium*.

L'assenza di linee di test (Pan e Pf) indica un risultato negativo. Il test contiene un controllo interno (linea C) che deve presentare una linea colorata dell'immunocomplesso degli anticorpi di controllo, indipendentemente dallo sviluppo del colore su una qualsiasi delle linee del test. Se la linea C non si sviluppa, il risultato del test non è valido e il campione deve essere analizzato nuovamente con un altro dispositivo.

## 3 – MATERIALI FORNITI – CONFEZIONAMENTO

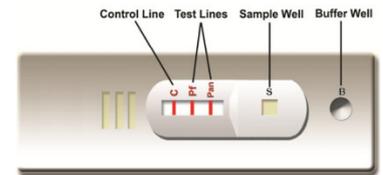
Prodotto	Tipologia	REF	Confezione
MALARIA MBPan CND: W0104050202; EDMA: 14.05.02.02; RDM: 2147497/R	Test immunocromatografico	VQ81706 (30 test)	30 buste di alluminio sigillate contenenti la card e un essiccante. 1 fialone di plastica con tappo gocciolatore contenente il tampone di lisi. (1 x 10 mL). Dispositivi per il trasferimento di sangue da 5 µL – mini pipette di plastica. (30 pezzi) Imballo secondario: scatola di cartone.

## 4 – MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Guanti monouso; Cronometro.

## 5 – PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- Tutte le operazioni riferite all'esecuzione del test devono essere condotte in accordo alle Buone Pratiche di Laboratorio.
- MALARA MBPan è un kit qualitativo per l'uso diagnostico *in vitro*, per il solo uso professionale; deve essere utilizzato da personale di laboratorio qualificato anche minimamente addestrato.
- Questo prodotto è classificato non pericoloso in accordo alla Legislazione Europea vigente.
- Leggere bene le Istruzioni per l'uso prima di usare il prodotto.
- Evitare di toccare le strisce di nitrocellulosa con le dita.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e manipolati nello stesso modo di agenti infettivi.
- Ciascuna card deve essere usata una sola volta.
- Non usare reagenti di altri lotti o di altri kit.
- La card deve rimanere nella busta chiusa fino al suo utilizzo.
- Non usare la card se la busta è danneggiata.
- Si può usare sangue emolizzato, ma privo di precipitati.
- Usare i guanti per la manipolazione dei campioni.
- Eliminare i guanti, tampone di lisi, le mini pipette e le card utilizzate rispettando le regole di laboratorio ed utilizzando appositi contenitori per il rischio biologico.
- Non fumare, bere o mangiare nell'area dove si utilizzano i campioni e i reattivi del kit.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza. La qualità dei reagenti non può essere garantita oltre la data di scadenza o se il kit è conservato in condizioni non appropriate.





- I risultati del test devono essere letti entro 30 minuti dalla dispensazione del campione nel pozzetto del dispositivo. I risultati letti dopo 30 minuti devono essere considerati non validi e devono essere ripetuti.
- Non eseguire il test in una stanza con un forte flusso d'aria, ad esempio un ventilatore elettrico o una forte aria condizionata.
- Il Certificato di Analisi e la Scheda Dati di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito web: [www.masciabrunelli.it](http://www.masciabrunelli.it).
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utente finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utente finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.
- Comunicare a Mascia Brunelli Spa e alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo diagnostico in vitro. [complaint@masciabrunelli.it](mailto:complaint@masciabrunelli.it)
- Come per tutti gli esami diagnostici, una diagnosi clinica definitiva non deve basarsi sui risultati di un singolo test, ma deve essere formulata dal medico solo dopo aver valutato tutti i risultati clinici e di laboratorio.

### 6 – CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE E RACCOLTA DEL CAMPIONE

Tutti i reagenti sono pronti all'uso come forniti. Conservare la card chiusa nella busta, preferibilmente a 2°C-30°C. Non esporre il kit a temperature superiori a 30°C. Non congelare il kit. Se conservato a 2°C-8°C, assicurarsi che la card sia portata a temperatura ambiente prima di aprirla. La card è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla busta sigillata.

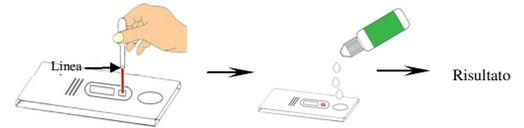
Considerare qualsiasi materiale di origine umana come infettivo e trattarlo con le procedure di biosicurezza standard.

Raccogliere il sangue intero in un contenitore pulito contenente un anticoagulante (EDTA, citrato o eparina) mediante prelievo venoso. Il sangue può essere ottenuto anche mediante puntura del dito. I campioni di sangue intero devono essere conservati in frigorifero (2°C-8°C) se non vengono analizzati immediatamente, per un massimo di 3 giorni. Il campione deve essere congelato a -20°C per una conservazione più lunga. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente.

### 7 – PROCEDIMENTO DEL TEST

**Portare i campioni e i reattivi a temperatura ambiente prima di eseguire il test. Aprire la busta solo al momento di eseguire il test.**

1. Miscelare bene il campione una volta scongelato. Il sangue sarà emolizzato dopo scongelamento.
2. Rimuovere il dispositivo card dalla busta. Appoggiarlo su una superficie piana e pulita.
3. Identificare il dispositivo con i dati del paziente.
4. Raccogliere il campione riempendo la pipetta di plastica monouso fornita senza oltrepassare la linea campione indicata nella figura. Tenendola verticale, dispensare una goccia (circa 5 µL) nel pozzetto del campione (S), evitando la formazione di bolle.



5 µL di campione di sangue      2 gocce di tampone Lisante      30 minuti  
*Nota: Fare pratica prima del test, se non si ha familiarità con il minicontagocce, per una migliore precisione utilizzare pipetta semiautomatica in grado di erogare 5µL di volume.*

5. Aggiungere 2 gocce (50-100 µl) of di tampone Lisante nel pozzetto di sviluppo (B).
6. I risultati possono essere letti dopo 30 minuti. Possono essere necessari più di 20 minuti perché lo sfondo diventi più chiaro. Tuttavia, i risultati devono essere confermati solo al termine dei 30 minuti. Qualsiasi risultato interpretato al di fuori dei 30 minuti deve essere considerato non valido e deve essere ripetuto. Dopo l'interpretazione dei risultati, gettare il dispositivo usato seguendo le leggi locali che regolano lo smaltimento del dispositivo.

### 8 – LETTURA E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

**NEGATIVO:** E' presente solo la linea C, l'assenza di altre linee colorate nella zona test (Pan e Pf) indica che non vengono rilevati gli antigeni del *plasmodium*. Il risultato è negativo o non-reattivo.

#### POSITIVO:

Oltre alla linea C, se si forma solo la linea Pan, il test indica la presenza di antigene pLDH. Il risultato è Pf negativo e non-reattivo, e positivo o reattivo per una qualsiasi delle altre tre specie di *Plasmodium* (Pv, Pm e Po) (**Limiti del metodo-6**).

Oltre alla linea C, se si forma solo la linea Pf, il test indica la presenza di antigeni pHRP-II. Il risultato è Pf positivo o reattivo.

Oltre alla linea C, se si formano entrambe le linee Pan e Pf, il test indica la presenza di entrambi gli antigeni pHRP-II e pLDH. Il risultato è Pf positivo o reattivo. Il risultato può essere positivo o reattivo per Pf e per una qualsiasi delle altre tre specie di *Plasmodium* (Po, Pv e Pm) (**Limiti del metodo-3**).

*Un risultato positivo deve essere sempre confermato da metodi diagnostici alternativi e da evidenze cliniche prima di effettuare una diagnosi definitiva.*

**NON VALIDO:** Se non si forma la banda C, il test non è valido indipendentemente dalla formazione di qualsiasi altra linea, come indicato sotto. Ripetere il test con una nuova card.



### 9 – CONTROLLO QUALITÀ INTERNO

In ogni striscia reattiva è inclusa la procedura di Controllo Qualità interno. La formazione della banda di controllo "C" conferma che la tecnica procedurale è corretta e che il volume del campione è sufficiente.

### 10 – CARATTERISTICHE

#### 1. Performance clinica con campioni positivi per Pf

I campioni di sangue sono stati raccolti da un'area endemica per la malaria e analizzati con il Malaria MBPan e con il test dello striscio di sangue. Il confronto tra tutti i soggetti è riportato nella tabella seguente.



	Pf		Pan	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Striscio di sangue	43	280	101	99
Malaria MBPan	43	280	96	104

Determinazione Pf:

Sensibilità: 100%, Specificità: 100%;

Determinazione Pan:

Sensibilità: 95%, Specificità: 100%, valore K: 0,98

## 2. Cross-reattività

### Pv e Pf cross reazione:

Un campione di sangue negativo è stato addizionato con antigene ricombinante Pv-LDH, Pf-LDH e pHRP-II e testato con il Malaria MBPan, rispettivamente. I risultati hanno dimostrato che il sistema di rilevamento Pv non ha reagito in modo incrociato con l'antigene Pf e viceversa.

Concentrazione Antigene	Reattività Pf	Reattività Pan
1.0 mg/mL pHRP-II	Positivo	Negativo
1.0 mg/mL Pv-LDH	Negativo	Positivo
1.0 mg/mL Pf-LDH	Negativo	Positivo

### Cross reazione con gli antigeni dei microbi più comuni:

Un campione di sangue negativo è stato addizionato con antigeni di microbi comuni e poi analizzato secondo la procedura standard. I risultati hanno mostrato che il Malaria MBPan non ha avuto reazioni incrociate con i seguenti antigeni alla concentrazione testata.

Antigene (Ag)	Concentrazione	Reattività Pf	Reattività Pan
HIV-1 p24 Ag	1.0 mg/mL	Negativo	Negativo
HBsAg	1.0 mg/mL	Negativo	Negativo
Dengue NS1 Ag (DEN1, 2, 3, 4)	1.0 mg/mL	Negativo	Negativo
Chikungunya virus Ag	1.0 mg/mL	Negativo	Negativo

### Cross reattività con campioni provenienti da altre malattie infettive:

Non sono stati osservati risultati falsi positivi del test Pf o Pan su 8-19 campioni provenienti dai seguenti stati patologici o condizioni speciali:

HAV HBV HCV HIV H.pylori Dengue T. pallidum ANA HAMA RF (up to 2.500 IU/mL) TB

## 3. Interferenze

Sostanze comuni (come farmaci per il dolore e la febbre, componenti del sangue) possono influenzare le prestazioni del Malaria MBPan test. Lo studio è stato condotto dosando queste sostanze a tre livelli dei controlli standard pHRP-II e pLDH. I risultati dimostrano che, alle concentrazioni testate, le sostanze studiate non influiscono sulle prestazioni del Malaria MBPan.

Elenco delle sostanze potenzialmente interferenti e delle concentrazioni testate:

Albumina	60 g/L	Creatinina	442 µmol/L	Glucosio	55 mmol/L	IgG umane	150 mg/dL
Bilirubina	20mg/dL	EDTA	3,4 µmol/L	Eparina	3.000 U/L	Acido Salicilico	4,34 mmol/L

## 11 – LIMITI DEL METODO

- Devono essere seguite attentamente la procedura e l'interpretazione dei risultati quando si analizza la presenza dell'antigene di plasmodium nel sangue intero di singoli soggetti. La mancata osservanza della procedura può dare risultati imprecisi.
- Il Malaria MBPan è limitato alla rilevazione qualitativa dell'antigene del plasmodium nel sangue intero. L'intensità della linea del test non ha una correlazione lineare con il titolo dell'antigene nel campione.
- Nel caso in cui siano visibili entrambe le linee Pan e Pf, interpretare il risultato con cautela. L'infezione da Pf da sola o la coinfezione con Pf e una qualsiasi delle altre tre specie di plasmodium può determinare lo sviluppo di colore su entrambe le linee Pan e Pf. Pertanto, quando sono visibili entrambe le linee Pan e Pf, è necessario eseguire ulteriori test per discriminare ulteriormente le specie di plasmodium presenti nel campione.**
- Un risultato negativo per un singolo soggetto indica l'assenza di antigene plasmodium rilevabile. Tuttavia, un risultato negativo del test non preclude la possibilità di esposizione o infezione da plasmodium.
- Un risultato negativo può verificarsi se la quantità di antigene di plasmodium presente nel campione è inferiore ai limiti di rilevazione del test, o se gli antigeni che vengono rilevati non sono presenti durante lo stadio della malattia in cui viene raccolto il campione.
- Un risultato positivo per la pLDH e negativo per la pHRP-II non esclude necessariamente un'infezione da Pf, poiché, a causa della diversità genetica, alcuni isolati di Pf mancano del gene HRP-II<sup>7-8</sup>.
- L'infezione può progredire rapidamente. Se i sintomi persistono, mentre il risultato del Malaria MBPan è negativo o non reattivo, si raccomanda di eseguire un test alternativo.
- Alcuni campioni contenenti titoli insolitamente elevati di anticorpi eterofili o fattore reumatoide possono influenzare i risultati attesi.
- I risultati ottenuti con questo test devono essere interpretati solo in combinazione con altre procedure diagnostiche e risultati clinici.

## 12 – BIBLIOGRAFIA

- Malaria, p. 421-424. Chapter 9. Infectious and Parasitic Diseases. Rubin E., Farber JL: Pathology, 2nd ed. 1994. J.B. Lippincott, Philadelphia.
- Cooke AH, Chiodini PL, Doherty T, et al, Am J Trop Med. Hyp, 1999, Feb: 60(2):173-2
- Guthmann JP, et al: Trans R Soc Trop Med Hyg. 2002, 96(3):254-7
- Kar I, Eapen A, Adak T, Sharma VP, Indian J Malariol. 1998, 35(3):160-2
- Mills CD, Burgess DC, Taylor HJ, Kain KC. Bull World Health Organ. 1999;77(7):553-9
- Cloonan N, Fischer K, Cheng Q, Saul A. Mol Biochem Parasitol. 113(2):327-30
- Gamboa D, Ho M.F., Bendezu J, et al. PLOS One, 2010, 5(1), e8091.
- Koita OA, Doumbo OK, Quattara A, et al. Am J Trop Med Hyg. 2012 Feb;86(2): 194-8.

## TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

	Dispositivo medico diagnostico in vitro		Limiti di temperatura		Codice del lotto (DXXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Identificatore dispositivo
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)		Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

## CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'uso (IFU) - Revisione 1	Aggiornamento del contenuto e del layout	2023/01

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

